BACTERIOLOGIA

SOBRE EL

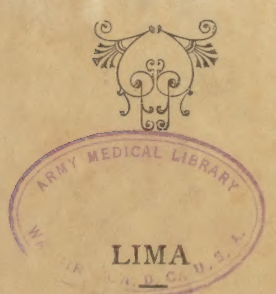
BACILO DEL TETANO

TESIS

PRESENTADA PARA OPTAR EL GRADO DE
DOCTOR EN MEDICINA

POR

DAVID MATTO



LIMA

IMPRENTA DE BENITO GIL
Banco del Herrador 113,—Bodegones 42.

1891

Señor Decano;

SEÑORES PROFESORES:

El ilustre Pasteur, dijo en una ocasión, al ser interrogado sobre las conquistas hechas en el nuevo mundo de los micro-organismo: "el campo de la Bacteriología se asemeja á una inmensa floresta que vieramos á lo lejos, al pasar en un tren; podemos distinguir apenas uno que otro árbol y decir éste es un pino, aquella una encina: el resto se nos escapa, pero no sin que hayamos llegado á comprender que ese campo es grande, muy grande."

Esta gráfica comparación del sábio francés demuestra cuán pequeños son aún nuestros conocimientos en esta materia y cuanto queda todavía por descubrir. Afortunadamente hombres de genio é investigadores infatigables, se han levantado en todas partes, para explorar de diversas maneras y en todos sentidos este reino de los infinitamente pequeños, entrevisto por Leuwenhoek (1683), Schwann, Ehrenberg, Cohn y Davaine y descubierto definitivamente, en este siglo, por Pasteur, Koch, Löffler. etc.

Cada día se hacen nuevos descubrimientos y no pasa un año si que los conocimientos bacteriológicos sean enriquecidos por algo muy importante, desde el descubrimiento de nuevas especies, hasta el estudio químico de las sustancias secretadas por los microbios. Por lo mismo, no es pues dudoso que tras-

currido algún tiempo veamos el terreno de la Bacteriología transformado como el mapa de Africa, conocida no ha mucho apenas en su litoral y atravesada hoy en diversas direcciones, por enmedio de sus selvas vírgenes y de sus lagos inexplorados. Quizá no está lejano el día en que un investigador de génio penetre cual otro Stanley en el centro de esta oscura rejión para describrirnos la flora microscópica, como el explorador norte americano nos ha dado á conocer la de los bordes del "Victoria Nianza" en el corazón mismo del Continente Negro.

La Bacteriología es una ciencia de ayer; está por decirlo así en su infancia, y sin embargo, cuánta revolución ha causado en la medicina, cuántas aplicaciones se han hecho ya de sus principios á la hijiene, y cuántos misterios de patología se han aclarado merced á ella! No es esto exajerado. El conocimiento de la causa de un gran número de enfermedades; el de la acción del aire en las fermentaciones, el mejor estudio de las aguas potables y de su influencia más ó menos patógena; el uso de los antisépticos empleados hoy con conocimiento de causa, en la profilaxia y tratamiento de muchas enfermedades; el lugar señalado á algunas entidades morbosas en el cuadro nosológico de las enfermedades infecciosas, cuando antes se consideraban como neurosis ó como enfermedades localizadas, son otros tantos hechos que vienen en apoyo de esta aserción.

No faltan tampoco ejemplos concretos que prueben lo que acabo de afirmar. Hasta hace pocos años se consideraba la erisipela como una dermatitis febril de carácter maligno, y contajioso; pero por qué esa fiebre con alteraciones tan pequeñas y localizadas; por qué esa malignidad; por qué en fin el contajio y los casos de muerte tan frecuentes especialmente durante el puerperio? Era imposible dar una explicación satisfactoria. Hoy el conocimiento del *streptococcus* de la erisipela, nos hace ver que dicha enfer-

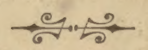
medad, es orijinada por ese micro-organismo, que es él quien produce la fiebre desproporcionada con la insignificancia relativa de la lesión local y que la muerte viene no por propagación de esta última, sino por la acción del microbio y de sus productos tóxicos sobre el organismo, por *infección*, en una palabra.

Durante mucho tiempo permanecieron inexplicables las parálisis de la diftéria, hasta el día en que Löffler aisló el bacilo que lleva su nombre y en que Roux reprodujo artificialmente dichas parálisis por la inoculación de las *diastases* secretadas por los bacilos encontrados en las membranas difteríticas.—No ha sido menor la influencia de la Bateriología para destruir ciertos errores admitidos como verdades por la ciencia médica. Tal ha sucedido con la cuestión de la dualidad de la tisis tuberculosa y la tisis caseosa. Aún después de los notables esperimentos de Villemin, se continuó creyendo en esa dualidad, no obstante las protestas que contra tales ideas hacían Ranvier y otros. Todavía no está lejano el tiempo en que hacíamos en nuestras clínicas ejercicios de diagnóstico para distinguir la tuberculosis pulmonar de la tisis caseosa. El descubrimiento del bacilo de Koch, vinó á poner fin á todas las dudas, y las ideas profesadas á este respecto durante veinte años, en todas las cátedras, cayeron por tierra.

La utilidad de los conocimientos bacteriológicos para la exacta comprensión de la anatomía y fisiolojía patolójicas, descritas en los libros modernos se halla fuera de duda; su importancia para el estudio de las enfermedades infecciosas está reconocida por todos; y es por esto que en los centros científicos más notables del mundo, en aquellos en que la medicina se encuentra más adelantada, existen institutos *ad hoc* como el de Pasteur en París ó el de Hijiene en Berlín, ó ya cátedras especiales como en Bruselas, Copenhague, Nápoles, New-York, etc, etc, dedicados al estudio de este ramo. Vosotros lo habéis también

comprendido así, puesto que aceptáis la creación de una nueva cátedra en la Facultad, no obstante la deficiencia de nuestros medios de enseñanza.

Concretándome, ahora al objeto de esta tesis, debo deciros, ante todo, que no hallaréis en ella nada orijinal, pues al escribirla, más que llenar un deber impuesto por el Reglamento, he tenido en mira reunir en un cuerpo lo que se encuentra esparcido aquí y allá en libros y en folletos, y lo que me ha sido posible aprender de boca de los diversos maestros á cuyas lecciones me cupo la suerte de asistir, sobre la importante cuestión de la *infecciosidad del tétano*. De este modo creo llenar mejor mi objeto, cual es el de que el presente trabajo sirva de algo á los alumnos que se dediquen á esta clase de estudios.



Bacilo del tétano ó bacilo de Nicolaier.

No hace todavía muchos años en que se definía el tétano como una neurosis traumática ó como el más grave de los espasmos producidos por el traumatismo (Richelot)—Al estudiar la patogenia de esta enfermedad, los autores se perdían en conjeturas sin fin, atribuyéndola unos á un simple reflejo nervioso, producido por una causa irritante que obraría sobre las extremidades periféricas de los nervios; otros á cierto estado de la sangre, que actuase sobre los centros reflejos; algunos, en fin, como Roser, la asemejaban á la rábia asignándole un veneno especial.

En medio de esta diversidad de opiniones había, sin embargo, algunos puntos en los que la observación de los hechos dejaba preocupados, y no sin razón, á los clínicos; estos eran: la existencia de epidemias de tétano, inexplicables por la hipótesis de la irritación periférica, pues no era dable suponer que individuos colocados en diversas circunstancias, con heridas en diferentes partes del cuerpo, tuviesen la misma susceptibilidad nerviosa para las causas irritantes;—algunos casos de contajio en que heridos asistidos por un mismo topiquero cayeron uno á uno atacados del mal;—la frecuencia del tétano en los heridos abandonados sobre el campo de batalla;—la semejanza, en fin, por todos reconocida entre esta enfermedad y el envenenamiento por la estricnina. Más aún, no hay un solo autor que trate del asunto que no dé suma importancia á las heridas de los pies

y de las manos, en la etiología del tétano. (1) Todos estos hechos, repito, no pasaron desapercibidos para observadores sagaces como Simpson, Roser, Lister, Billroth, etc. que sospechaban la naturaleza contajiosa del mal.

Cuando la medicina entró de lleno en el terreno experimental, que tantos progresos le ha valido, comenzaron á hacerse ensayos para demostrar esperimentalmente la infecciosidad del tétano, pero desgraciadamente con un resultado negativo. Estos primeros experimentos llevados á efecto, por Billroth, Arloing y Tripier consistieron en inyecciones de sangre de tetánico, hechas en animales, y en inoculaciones con la sustancia nerviosa de individuos muertos de esta enfermedad. A estos esperimentadores siguieron Rosenbach, Nocard y otros que tampoco obtuvieron mejor éxito. Todos ellos creían indudablemente que la génesis del mal estaba en la sangre. Observadores más capaces ó tal vez más afortunados, Carl y Rattone (de Turín) dirijieron la mirada hácia otro lugar: la herida del tetánico, consiguiendo demostrar plenamente la trasmisibilidad del mal. A semejanza de Villemin, en sus esperimentos sobre la inoculabilidad de la tuberculósis, dichos observadores tomaron de un individuo muerto de tétano—y que presentaba como única lesión externa una pústula de acne,—pequeños fracmentos de tejido de la pústula; hicieron una emulsión en agua destilada con la cual inocularon á 12 conejos en distintas rejiones del cuerpo (músculos del dorso, canal raquidiano, muslos etc.) De estos 12 conejos, 11 presentaron los síntomas característicos del tétano. Un éxito tan satisfactorio no fué sin embargo suficiente prueba para los esperimentadores italianos, que inocularon, después, otros cone-

---

Las manos y los pies están expuestos á ser contaminados con tierra y por consiguiente sus heridas mas en peligro de ser infectadas por el agente tetánico.

jos con fracmentos de tejido de los animales muertos, obteniendo un cuadro sintomático idéntico al observado en los 12 primeros conejos; é hicieron, en fin—como control, inoculaciones con diversas sustancias sépticas, sin que se hubiera presentado síntoma alguno que se pudiera referir al tétano.

Desde entonces quedó enteramente probado que la enfermedad en cuestión era trasmisible del hombre á los conejos y de éstos á otros animales de la misma especie.

Puede hacerse fácilmente un paralelo entre la historia de la tuberculósis y la del tétano.

Laennec proclama la unidad de la tisis y presciente su naturaleza infecciosa; Villemin demuestra experimentalmente su trasmisibilidad y Koch termina por descubrir el bacilo tuberculoso, dando plena razón á sus predecesores. Así mismo, Billroth, Lister, Griesinger, Panum, Roser y otros invocan más ó menos vagamente la infecciosidad del tétano; Carl y Rattone ponen fuera de duda su trasmisibilidad; Nicolaier descubre, entre muchos otros, el micro-organismo en forma de alfiler, causa específica del mal; y Kitasato, dos años después, logra aislarlo y prueba—por inoculaciones de cultivos puros, que es el bacilo de Nicolaier y nó otro el ajente productor del tétano.

Todo este trabajo se ha realizado en el espacio de pocos años, de 1870 á 1889.—Billroth, Lister, Arloing, Tripier, Nocard. Carl, Rattone, Nicolaier y Kitasato, con cuyos esfuerzos se ha levantado el edificio, viven aún.

Nicolaier no se propuso continuar los experimentos de Carl y de Rattone para llegar al descubrimiento del microbio que lleva su nombre; no; tal hecho se debió á la casualidad. El bacteriólogo alemán se ocupaba solamente de investigaciones sobre los micro-organismos de la tierra cuando durante sus estudios, fué sorprendido, un día, por un fenómeno que llamó vivamente su atención, á saber: que to-

dos los conejos inoculados días antes con la tierra del jardín cercano á su laboratorio, presentaban violentas convulsiones de los músculos del tronco y de las extremidades, trismus, opistótonos, en una palabra, un cuadro idéntico al del tétano Se entregó entonces á hacer exámenes microscópicos, cultivó los micro-organismos de la tierra y descubrió, entre éstos, un bacilo delgado, esporulado en su extremidad y que tenía en conjunto la forma de un clavo pequeño ó mejor dicho de un alfiler. Con esa intuición que dá el génio, aseguró, desde luego, que ese bacilo era el ajente específico de la enfermedad, no obstante que en la tierra encontró micrococos de diversas especies y bacilos á los cuales era difícil no hacerles jugar un papel importante en la etiología de la enfermedad tetánica. Hé allí el mérito de Nicolaier. En su disertación denominada "*Contribución al estudio de las contracciones en las heridas*" describió los caracteres del microbio que acababa de encontrar.

Después de Nicolaier, varios observadores trataron de aislar el bacilo en cuestión y entre ellos, Rosenbach, hizo con este objeto, grandes esfuerzos. —Los trabajos de este último, aunque negativos en un sentido, confirmaron sin embargo lo que Nicolaier había visto, esto es que en el pus tetánico se hallaba el microbio en forma de alfiler mezclado á otros varios. Faltaba, pues, saber si ese bacilo era el verdadero productor del tétano ó eran los demás que se hallaban junto con él. La cuestión quedó sin resolverse durante mucho tiempo no obstante de los trabajos emprendidos por Brieger, Nocard, Sormani, la señorita Cattani y otros.

Para que un micro–organismo sea considerado como la causa específica de una enfermedad, es necesario: 1º que se le encuentre *constantemente* en los humores ó los tejidos de los enfermos que sufren de dicho mal; 2º que las inoculaciones hechas con cultivos puros del micro-organismo reproduzcan la enfer-

medad; y 3º que el microbio ó sus productos vuelvan á encontrarse en el organismo del hombre ó animal inoculado.

La primera de estas condiciones había sido demostrada por Carl y Rattone y los observadores que les siguieron; la tercera—aunque no sin algunas excepciones, fué puesta fuera de duda por el mismo Nicolaier; pero la segunda, que era la más importante para la resolución del problema, permaneció como una incógnita hasta el mes de Abril de 1889, en que Kitasato hizo su célebre comunicación al XVIII. Congreso de la Sociedad Alemana de Cirujía, reunido en Berlín.

En dicha comunicación, el bacteriólogo japonés anunció haber obtenido cultivos puros del bacilo de Nicolaier; y haber reproducido el tétano en los animales por inoculaciones hechas con dichos cultivos. Es interesante conocer cómo el labioroso asistente del "Instituto de Hijiene," llegó á feliz término en sus experimentos. Recojió un poco de pus de la herida de un soldado muerto de tétano; lo sometió á la observación microscópica, hallando en dicho pus el bacilo esporulado descrito por Nicolaier; y por último, reprodujo el tétano por inoculaciones hechas con ese pus en animales (ratones blancos) Hasta aquí nada hay de nuevo: Kitasato vió lo que Nicolaeir y los demás. Desde este punto es preferible citar las palabras textuales de Kitasato en su comunicación ya mencionada, que se publicó en los Archivos de Hijiene (Zeitschrift für Higiene) Dice así:

" Tomé un poco de pus tetánico y lo sembré en serum de sangre solidificado, sometiéndolo en seguida á la temperatura de 36 á 38° en la estufa de incubación; de este modo conseguí que desarrollaran antes de 24 horas, todos los micro-organismos contenidos en el pus; en ese estado hice una investigación microscópica y encontré entre cinco otros microbios, el bacilo esporulado (Bacillen mit Kopfchen-

sporen). Después de 48 horas, este último se había multiplicado en profusión. Entonces llevé el cultivo á un baño maría calentado á 80° y lo mantuve allí por espacio de ¾ á una hora. Con este cultivo en el que creía que quedaban vivas solamente las esporas, inoculé algunos ratones, quienes murieron de tétano. Después de haberme convencido por este hecho de que el cultivo en cuestión contenía esporas del bacilo tetánico (1) mezclé con el hilo de platino, lleno de gelatina, conteniendo las esporas, otra cantidad de sustancia nutritiva, que cultivé parte en placas, según el procedimiento vulgar y parte en recipientes *ad hoc* en que hice pasar una corriente de hidrójeno y la mantuve á una temperatura de 18° á 20°—Al cabo de una semana se habían desarrollado en los recipientes sometidos á la corriente de hidrójeno magníficas colonias, mientras que las placas hechas por el procedimiento común habían quedado estériles. Después de 10 días, abrí los recipientes á que he hecho referencia, é hice preparaciones sobre laminillas cubre—objetos, encontrando en el microscópio, bastoncitos más pequeños que los del edema maligno, que con frecuencia se hallaban aislados y otras veces reunidos en forma de largos hilos. Indudablemente los microbios encontrados eran anaereobios. Hice más cultivos con estas colonias, sirviéndome del método de Liborius,—y también en caldo y bajo la atmósfera de hidrójeno, En los cultivos en caldo hallé, por la investigación microscópica, numerosos bacilos con uno de los extremos presentando un cuerpo brillante, una espora. Con estos cultivos en que ya no cabía la menor duda de que fueran puros, inoculé algunos ratones los que después de 20 horas

(1) Kitasato supone aquí que con la elevación de temperatura han muerto todas las especies estrañas.

cayeron enfermos con tétano típico y murieron al cabo de 2 ó 3 dias." (1)

De este modo, Kitasato resolvió el problema en todas sus partes.—Obtuvo cultivos puros, separando el bacilo de Nicolaier de los demás con quienes se encontraba confundido en el pus;—probó que el espresado micro-organismo es un *anaerobio*;—hizo ver que la temperatura de 80°, durante una hora, no destruye las esporas del bacilo tetánico, mientras que aniquila las demás especies;—por último, confirmó la opinión de Nicolaier, al reproducir el tétano, artificialmente, por inoculaciones que practicó con el *cultivo puro* de dicho bacilo.

Después de la comunicación de Kitasato, gran número de micrógrafos han repetido en diversos laboratorios, los esperimentos del bacteriólogo japonés, llegando á los mismos resultados obtenidos por éste.

Entre los trabajos publicados al respecto, merecen especial mención: la Memoria de Sanchez Toledo y Veillón, asisentes del laborotorio del Dr. Straus, publicada en los "Archivos de Medicina experimental, "y que se contrae especialmente á la biología y caracteres del bacilo de Nicolaier; la comunicación de Vaillard y Vincent, de la Escuela de Val de Grace, que registran los "Anales del Instituto Pasteur," y en la que dichos autores se ocupan con particularidad de los productos venenosos secretados por el microbio tetánico; y en fin, la notable Memoria de Brieger, que trata de la naturaleza química de dichos productos. Este trabajo se ha publicado en el "Berliner Klinische Wochenschrift."

En el estudio de un micro-organismo, debe conocerse su morfología; sus condiciones biológicas; los caractéres físicos del cultivo en los diferentes medios;

(1) Ueber den Tetanusbacillus—Kitasato.
Zeitschrift für Higiene—Pág. 227—Vol. VII.

la acción que el parásito ejerce sobre el organismo animal, ya por sí mismo ó por los venenos que secreta; y los medios que es posible emplear para destruirlo, á fin de poder llegar á una profilaxia conveniente de la enfermedad que él orijina. Este es el orden que me propongo seguir en el presente trabajo

a) *Morfología.*—Observada bajo el microscópio, con un aumento de 900 á 1000 diámetros (objetivo de inmersión) una partícula de pus tetánico ó un poco de cultivo puro, hecho en caldo ó gelatina, se vé el bacilo del tétano bajo aspectos muy diferentes.—En los cultivos jóvenes (de 4 á 5 días de edad. en la gelatina; de 30 á 40 horas en el agar—agar, á la temperatura de la estufa)—se nota bastoncitos cortos, delgados, sin esporas aparentes; más tarde, esto es á los 6 ú 8 días, estos bastoncitos se han alargado, y algunos de ellos llevan ya una espora terminal redonda; á veces se observa dos bacilos unidos por uno de sus extremos, ya afectando la forma rectilínea ó formando un ángulo más ó menos abierto para constituir una V ó una <. En los cultivos de alguna edad, se distingue casi exclusivamente la forma clásica descrita por Nicolaier, esto es la que figura un alfiler y que parece revelar el estado adulto del microbio. Las esporas son cuerpos redondos, voluminosos relativamente al tamaño del bacilo, refrinjentes y ocupan comunmente uno de los estremos del bastoncito; á veces se observa dos esporas para un msimo bacilo, cuyas estremidades ocupan, y entonces el conjunto se asemeja á un par de anteojos. En los cultivos más viejos, se ve bastoncitos bastante largos en forma de hilos y esporas sueltas, como si los bacìlos hubieran sido decapitados: hay cabezas y cuerpos aquí y allá, en todo el campo del microscopio.

Es preciso, en la práctica, tener muy en cuenta esta polimorfía del bacilo tetánico, por que sucede frecuentemente que, teniendo representada en la men-

te la forma clásica en *alfiler*, se desechan cultivos donde el micro-organismo reviste las otras formas de involución ya descritas. Se debe, pues, aprender á reconocer al bacilo, no solo en la edad adulta, si no también en la infancia y en la vejez.

b) *Caractéres biológicos.*—Los bacilos del tétano son poco movibles, comparativamente con otros, pero su movilidad puede aumentarse si las observaciones se verifican en una temperatura superior á la normal. Las formas esporuladas son las que presentan menos movimientos, á diferencia de los bastoncitos cortos de los cultivos jóvenes, que son más vivaces.

Para darse cuenta de los diferentes grados de movilidad del bacilo de Nicolaier, es conveniente hacer un cultivo en gelatina y verificar observaciones diarias desde el 3.° ó 4.° día hasta el 20.

Casí todos los colores de anilina en solución hidro-alcohólica, colorean bien el bacilo tetánico; pero generalmente se dá la preferencia á la fuchsina y al color de violeta 6 B.

De los métodos de coloración especiales, los más convenientes son el de Gram, el de Ehrlich y el de Ziehl, que dan tintes duraderos. No debe olvidarse que los bacilos provenientes de cultivos muy viejos, se coloran con mucha dificultad. Otro tanto sucede con los que han dejado de existir. Para teñir los bacilos extemporaneamente he aquí el mejor procedimiento:—Se toma una pequeña cantidad de cultivo ó de pus tetánico con la asa de un hilo de platino esterilizado; se la coloca sobre una laminilla porta-objeto y se le añade una gotita de una solución débil de anilina (violeta ó rojo) cubriéndola en seguida con el cubre-objeto, y cerrando sus bordes con parafina.

El examen por el procedimiento de la "*gota colgante coloreada*" es muy bueno y tal vez más conveniente que el anterior, bajo el punto de vista de la conservación de las preparaciones.

Pueden obtenerse dobles coloraciones muy elegantes por el empleo de la solución de Ziehl (á la fuchsina carbólica) y del azul de metileno Se coloran primero las esporas según el procedimiento de Ziehl y luego se tiñe el resto del bacilo, con el color de metileno: se tiene así un bastoncito azul con cabeza roja.

La resistencia del bacilo tetánico contra la acción de los ajentes físicos y químicos, es bastante considerable, especialmente de parte de las esporas— Kitasato ha desecado estas últimas en hilos de seda, bajo un desecador de ácido sulfúrico, y al cabo de algunos meses estaban aún virulentas. Sanchez Toledo y Veillon han conservado igualmente tierra cargada de esporas tetánicas, durante siete meses, sometida á la sequedad y á la luz difusa, sin que hubiera perdido su poder patógeno. Los mismos esperimentadores han visto que un dedo amputado, conteniendo bacilos tetánicos, y sometido á la putrefacción al aire libre, conservaba su virulencia después de cinco meses: inoculaciones practicadas en animales demostraron que los bacilos tetánicos no habían sido anonadados por los microbios de la putrefacción.

Ya hemos visto que Kitasato, para aislar el bacilo de Nicolaier, sometió los cultivos impuros á una temperatura de 80° durante una hora, sin que las esporas pereciesen.

Durante el tiempo que permanecí en el laboratorio del Dr. Shraus, ocupándome una vez del estudio de este bacilo, sometí los cultivos á una temperatura de 90° c. por el espacio de media hora sin que hubieran perdido éstos su facultad de reproducirse. Igual resultado obtuvieron los SS. Sanchez Toledo y Veillón.

Esporas pegadas en hilos de séda han resistido durante diez horas á una solución de ácido carbólico á 5 %; tres horas á una de ácido fénico 5 % con 0'5 de

ácido clorhídrico; tres horas á la solución de sublimado al 1 por 1000; media hora á la mezcla de bicloruro de mercurio y de ácido muriático.

Cien centímetros cúbicos de un caldo saturado de esporas, fueron mezclados con 10 cc. de cloroformo y encerrados en un aparato por dos días; al cabo de ese tiempo el cloroformo fué evaporado y se practicaron inoculaciones en cuyes y conejos con el caldo restante. A las 15 horas murieron los animales con un tétano típico (Kitasato.)

Nadie, que yo sepa ha ensayado hasta la fecha el hidrato del cloral, medicamento único talvez que tiene buen éxito en la clínica.

La corriente de vapor de agua á 100°, mata en cinco minutos las esporas del tétano. Este hecho es muy importante bajo el punto de vista de la desinfección.

Todos los esperimentadores convienen en que el medio natural, favorito, del bacilo del tétano es la tierra; y creo inútil recordar que allí fué donde Nicolaier lo descubrió. Fuera de aquella, se le halla también en el heno y en el guano del caballo.

Ya que toco este punto, debo hacer mención, aunque sea de paso, de la teoría sostenida por el Profesor Vernueil, que considera el tétano como de orijen equino.

Para apoyar su teoría, el célebre cirujano de la Escuela de París, ha acumulado un gran número de observaciones propias y agenas, de cuya estadística resulta que el tétano se produce con más frecuencia en los individuos que por su profesión ú otros motivos, se hallan en contacto íntimo con los caballos.

El Dr. Vernueil tiene razón á primera vista; los hechos que presenta son innegables, pero su interpretación me parece defectuosa. Es que el sábio profesor habla como clínico y no como bacteriólogo: satisfecho con probar que el tétano es más común en los cocheros, palafreneros y caballerizos, no ha lle-

vado más adelante sus investigaciones. "Si las hubiera continuado con imparcialidad, habría podido convencerse de que el bacilo tetánico se encuentra en los caballos por dos motivos: 1º por la tierra de que generalmente se cubren estos animales al revolcarse en el suelo, y 2º por el heno de que comunmente se alimentan, al menos en Europa.

A este respecto es curiosa la evolución que sufre el microbio á través del cuerpo del animal. Las esporas del bacilo son injeridas por el caballo junto con el heno y llegan á los intestinos; allí encuentran las condiciones más favorables para su desarrollo, como son temperatura elevada, ausencia de oxijeno, y presencia de gases inertes como el ácido carbónico, el hidrógeno sulfurado, etc. y se transforman en bacilos adultos para ser expulsados nuevamente con los excrementos.—Sanchez Toledo y Veillón han encontrado el bacilo tetánico en la tierra sacada de la piel del caballo por medio de la rasqueta; y han conseguido también dar un tétano esperimental á un conejo por la inoculación sub-cutánea de los excrementos de caballos alimentados con heno,

El caballo y los demás animales de esta especie son pues exelentes medios de trasporte y de infección tetánica, sin que se pueda decir por esto que la raza equina es la que orijina el tétano. Para reconocerle con justicia esta propiedad sería necesario que sucediese con ella lo que pasa con la vacuna y la especie bovina.

El bacilo de Nicolaier es un extricto anaereobio; crece y se multiplica solamente al abrigo del aire ó en medio de inertes, entre los que el más propicio es el hidrójeno. Sin embargo de esto, sus esporas no son destruidas por el oxíjeno.

c) *Cultivos.*—Como medios de cultivo, los más favorables son la gelatina, el agar-agar y el caldo peptonizado. La adición á estas sustancias de uno á dos por ciento de glucosa ó de indigotato de potasa,

favorece la jerminación de los cultivos del bacilo en cuestión. El serum sanguíneo es poco usado.

El cultivo puede hacerse en placa ó en tubo, y los caracteres de él varían, naturalmente, según que se emplee uno ú otro de estos procedimientos.

En placa.—Solamente después de que Kitasato aisló el bacilo tetánico y perfeccionó la técnica de los cultivos en placa para los anaeróbios, es que esta forma de cultivo se ha generalizado. Como consecuencia ha progresado también el estudio de las colonias del micro-organismo de que vengo tratando. La gelatina y la jalea de agar–agar son las dos sustancias empleadas con este objeto. Las colonias comienzan á presentarse, en la primera, hácia el tercero ó cuarto día; en la segunda á las 24 ó 36 horas; á la temperatura de la estufa. Se las ve, una vez desarrolladas, bajo la forma de pequeñas masas blanquizcas, espesas en el centro, de donde parten radios finos hacia todos lados dándole el aspecto del sol; en este estado las colonias del bacilo de Nicolaier se parecen mucho á las del *bacillus subtilis* ó bacilo del heno. Poco á poco fluidifican la gelatina de modo que á los 10 ó 12 días ésta se halla completamente líquidada.

En las placas de agar—agar los caracteres de las colonias son menos definidos á causa de la semi-opacidad del medio nutritivo, razón por la que se prefiere el uso de la gelatina que es completamente trasparente.

En tubo.—El aspecto de los cultivos en tubo es tan característico que en una *estichcultura* puede reconocerse inmediatamente el bacilo tetánico. La parte superior del medio nutritivo, en una extensión como de dos centímetros debajo de la superficie, permanece estéril; más abajo á lo largo de todo el trayecto recorrido por el hilo de platino, aparece una raya opoca espesa de donde parten á cada lado irradiaciones como las barbas de una pluma. Los ale-

manes le asemejan á una hoja de pino (Tannenbaum-cultur) pero la primera comparación me parece mas propia. Conforme avanza el cultivo, si este se ha hecho en gelatina, comienza la fluidificación de la sustancia y el cultivo va descendiendo poco á poco hasta que, una vez liquefactada la gelatina, cae al fondo del tubo, bajo la forma de una nube espesa, turbia, de color gris blanquizco.

La jalea de agar-agar funde á una temperatura de más de 40°, así es que los cultivos hechos en esta sustancia, pueden colocarse, sin temor, en la estufa de incubación á 36'ó 38°. A esa temperatura las colonias nacen y se desarrollan con suma rapidez, de modo que á las 36 ó 40 horas es posible obtener un cultivo bastante crecido.

Los cultivos en caldo no presentan particularidad alguna. Son muy convenientes para el método de observación microscópica denominada "gota colgante", En cuanto al serum de sangre, la dificultad de su preparación no lo hace emplear con frecuencia.

En otro trabajo complementario de éste he dado á conocer los diferentes métodos de cultivo de los anaerobios y como el bacilo del tétano pertenece á esta clase de bacterias, todos los procedimientos allí descritos son aplicables á él. Sin embargo, tratandose de elejir entre éstos los que ofrezcan mayores ventajas, recomiendo especialmente: 1) Para los cultivos en placa, el método de Kitasato; 2) para los cultivos en tubo los métodos de Esmarch, de Liborius y de Roux.

Cuando se trata simplemente de trasplantar una semilla de un cultivo puro, es preferible recurrir al método de Liborius; pero si el germen ha sido recojido del pus de una herida, en el qne se encuentra confundido con otros, es de necesidad emplear el cultivo en placas ó mantener el pus sospechoso, durante ½ hora en un caldo calentado á 90°

Una de las particularidades más notables que

posée el bacilo del tétano es la formación de gases cuyo desprendimiento dá un olor *sui generis* á los cultivos. Dicho olor que Kitasato llama *empircumático* (Brenzlich) es comparado por Sanchez Toledo y Veillón al que despide el cuerno quemado.

Para la fácil comprensión de la materia, me ha parecido conveniente y al mismo tiempo útil, á semejanza de Eisenberg, (1) reunir en el siguiente cuadro los principales caracteres del micro-organismo de que me ocupo.

Bacilo del Tétano—Nicolaier—Kitasato

Medio habitual........ La tierra

Forma.................. Bastoncitos cortos, hilos largos, forma de alfiler.

Movilidad.............. Poco movible.

Germinación........... En la gelatina á la temperatura de 18 á 20° comienza á germinar desde el tercero ó cuarto día. En el agar á la temperatura de 36 á 38° nace á las 24 ó 36 horas.

Forma del cultivo

En placa............. Colonias redondas y espesas en el centro, con irradiaciones en todo sentido

(1) "Bakteriologische Diagntiok"—Hamburgo—1888.

En tubo...............	En la estichcultura, una raya espesa, con hilos laterales como las barbas de una pluma.
Esporulación...........	Forma esporas redondas, voluminosas, refrinjentes
Relación con el aire....	Anaeróbio.
Producción de gas......	Despide gases de un olor especial.
Relación con la temperatura.	La temperatura de 36 á 38°—es la más favorable—Resiste la temperatura de 90° por ½ hora.
Relación con la gelatina..	Fluidifica la gelatina.
Coloración.............	Se colora muy bien con la fuchsina y el violeta 6 B
Secreción de venenos...	Secreta venenos muy activos, toxinas.
Patogenesis............	Produce el tétano, por inoculación en la mayor parte de los animales: conejos, cuyes, caballos, perros, ratas, etc. No se ha inoculado al hombre.

Experimentos sobre los animales.—Si se inocula bajo la piel de un animal, tal como el conejo ó el ratón, cierta cantidad de cultivo puro de bacilos tetánicos se observa que á las 20 ó 24 horas se manifies-

tan los primeros síntomas de la enfermedad. Estos síntomas consisten en contracciones tónicas de los músculos de la rejión en que se ha inoculado el veneno. Pocò á poco se generalizan dichas contracciones, hasta constituir un cuadro completo, como el que se observa en un individuo atacado de tétano, á saber: respiración corta y acelerada; aumento de temperatura; contracciones tónicas generales que se exacerban por toflo exitante: contacto, acción de la luz, soplo, etc. Este estado se prolonga durante algún tiempo y el animal sucumbe irremisiblemente, si el cultivo inoculado es de alguna fecha.

A la autopsia, las lesiones anatómicas son insignificantes y á veces nulas. Ni aún el sitio de la inoculación presenta alteraciones dignas de tomarse en cuenta; en algunos casos hasta me ha sido difícil, al practicar la necrópsia, encontrar el lugar preciso en que se había hecho la inoculación, tan pequeña es la acción local producida por el veneno tetánico. Este hecho concuerda con los fenómenos observados en la clínica: las heridas de los enfermos de tétano apenas sí se distinguen de las de los demás.

Efectos semejantes á los que quedan descritos, se obtienen también por la inoculación del pus recojido de las heridas de los enfermos de tétano, donde siempre se encuentra el bacilo específico, ya solo, ya en unión de otros microbios. También se le halla constantemente en los tejidos que circundan la herida.

Al tratar de darse cuenta de los efectos causados por el ajente tetánico sobre el organismo animal, se ha sucitado la cuestión de si los espresados microbios penetran ó no en el torrente circulatorio para ser trasladados á los demás órganos. Nicolaier, Beumer, Bonnome, y Kitasato, basándose en su experiencia personal, creen que el micro-organismo en forma de alfiler, queda localizado en la herida, y los tejidos muy vecinos; Sanchez Toledo y Veillón no

son tan afirmativos, inclinándose á pensar que durante la vida pueden pasar á la sangre, aunque en número bien pequeño, "*casi al extremo de unidad*", según la frase empleada por estos autores.

Por mi parte me inclino hacia la opinión sustentada por los experimentadores alemanes, y esto fundándome en que el bacilo tetánico no puede encontrar en la sangre condiciones apropiadas para su existencia, á causa de su carácter *anaercobio* y de la riqueza en oxígeno del líquido sanguíneo.

No puede presentarse como argumento contra esta opinión, el hecho de que se haya producido el tétano por inoculaciones de sangre, de fracmentos de médula ó de los líquidos secretados por el hombre ó el animal tetánico; por que, como veremos más adelante, las sustancias solubles, secretadas por los microbios, penetrando en la sangre y los demás órganos, son capaces de determinar por sí solas las contracciones tónicas, características de la enfermedad.

Creo, pues, que aquí sucede lo mismo que en la difteria. El bacilo de Löffer y Klebs (1) se localiza en las falsas membranas de la laringe, y sin embargo actúa á distancia por intermedio de las sustancias tóxicas que secreta.

Veneno elaborado por los bacilos del tétano.— Si se filtra por medio del tubo de porcelana de Pasteur un cultivo puro de bacilos tetánicos y se inocula el líquido resultante de la filtración, á un conejo por ejemplo, el animal es presa de contracciones musculares, cuya intensidad está en relación con la edad del cultivo que se ha usado. Esto prueba de la manera más terminante que no es indispensable

---

(1) Aunque Klebs fué el primero que vió el bacilo de la difteria, se atribuye generalmente el descubrimiento á Löffer, por que él fué quien hizo los primeros cultivos y las primeras inoculaciones con resultado positivo.

la presencia de los bacilos para obtener el tétano experimental, y que basta, para llegar á este resultado, inocular los productos solubles que han atravesado el filtro, libres por consiguiente de todo gérmen figurado. Hace ver, igualmente, que el bacilo tetánico en su completo desarrollo, en la plenitud de su vida, elabora un veneno capaz de producir una intoxicación semejante á la de la estricnina.

Que la potencia tóxica del veneno tetánico, aumenta con la edad del cultivo, lo prueba la experimentación animal. En un cultivo joven, de 6 á 8 días, la sustancia tóxica está tan atenuada, que el animal inoculado apenas presenta contracciones ligeras y se restablece. En cambio, el mismo cultivo inoculado 20 días después, mata rápidamente al animal, en medio de contracciones violentas, con un tétano fulminante.

La idea de que el bacilo de que me ocupo obra en virtud de un veneno elaborado por él mismo, fué ya sostenida hace mucho tiempo por Nicolaier, Rosenbach y Flüge, pero necesitaba de la confiımación experimental. Este vacío ha sido llenado solamente en los últimos años por los trabajos de Brieger, Weil y Kitasato en Alemania, de Vaillard, Vincenty Roux en Francia, y de Faber en Copenhague.

Acabamos de ver que el producio de la filtratración de los cultivos contiene una sustancia venenosa muy activa (1), que no pueden ser formada sino por los microbios; que su poder tóxico aumenta con la edad del cultivo; y que, en fin, produce el tétano en ausencia absoluta de los bacilos de Nicolaier. Pero cnál es la naturaleza de esta sustancia?

Los trabajos de los experimentadores antes ci-

(1) 0'00000025 de CC. dá la muerte á un ratón, según Vaillard.

tados, tratan de determinarla, como vamos á verlo en seguida.

Al principio de sus estudios, Brieger la comparó á las ptomainas y creyó encontrar en la mezcla la *tetanina*, *tetanotoxina* y la *espasmo-toxina*, pero más tarde reformó sus opiniones. Kitasato y Weil describieron después procedimientos para aislar dos compuestos ptomaicos, bajo la forma de clohidratos de tetanina y de tetanotoxina; mas, las inoculaciones practicadas con dichos compuestos dieron por resultado un cuadro sintomático muy poco parecido al del tétano. Por otra parte, las ptomainas son cuerpos estables, lo que no sucede con los líquidos obtenidos por la filtración de los cultivos. Trabajos posteriores realizados en Alemania por Brieger y Fränkel y en Francia por Vincent, han demostrado que el veneno tetánico es un compuesto *albuminoideo*, semejante á las diasteses, y al que los primeros autores lo han bautizado con el nombre de *toxalbumina*.

A igual conclusión han llegado los trabajos de Faber en Copenhague y de Tizzoni y la señorita Catani en Italia.

Vaillard y Vincent que han estudiado últimamente esta materia, atribuyen las propiedades siguientes á la tóxina en cuestión.

La temperatura de 65° destruye ó disminuye por lo menos, la acción del veneno. Un líquido activo que mata á un cuye á la dósis de 1/200 de centimetro cúbico, es completamente atenuado si se le mantiene por 40 minutos á 60° ó 20 minutos á 62°. Calentado á 65° durante 30 minutos, se vuelve completamente inactivo.

Mantenido al abrigo del aire en vasos cerrados, conserva su actividad por mucho tiempo (4 meses), Espuesto al aire y á la luz solar, pierde su actividad después de un mes.

Por último comparando la toxina tetánica al

veneno de la difteria, los mismos autores agregan:

" El veneno tetánico no presenta ninguno de " los caracteres de las ptomainas ni de los otros al- " caloides. Por el conjunto de sus propiedades se " aproxima del veneno diftérico, que Roux y Yer- " sín han comparado con las diastases y las ponzo- " ñas. Como las primeras, destruido por el calor, " por el aire y la luz solar; es precipitable por el al- " cohol y adhiere á ciertos precipitados. Como las " ponzoñas, obra á dosis imponderables, y no pro- " duce acción alguna si es ingerido por las vías di- " gestivas."

No creo que se haya dicho la última palabra en cuanto á la determinaeión de la naturaleza del veneno tetánico, pero he juzgado conveniente hacer conocer en el presente trabajo, el estado actual de la cuestión y lo que se ha hecho en este sentido. Espero sí que muy pronto se aclararán las dudas, tan rápidamente avanza la ciencia esperimental hoy en día.

Patogenia.— Pasando ahora á ocuparme de la patogenia probable del tétano, según los datos suministrados por la biología del *bacilo—alfiler*, por las propiedades de la toxina tetánica y por los esperimentos llevados á cabo por algunos observadores al estudiar la acción de esta última sobre los centros medulares, voi á decir con franqueza, pero sin pretensión alguna, lo que pienso al respecto; y para esto no haré mas que seguir al bacilo desde que es introducido en la herida junto con la tierra, hasta la explosión de los fenómenos que caracterizan el mal.

Un caso ocurrido hace poco tiempo me dá la ocasión de poder llenar más facilmente mi tarea.

El Sr. Rouillón sufrió en el pueblo de Miraflores, una caída de caballo, en cuyo accidente tuvo la desgracia de fracturarse los huesos del antebrazo izquierdo, cerca de la muñeca. Uno de los fracmentos perforó la piel produciendo, como es de suponerse, una herida desigual que fué cubierta de tierra,

pues la caida se verificó á la entrada del pueblo donde el terreno es bastante suelto—Curada la herida, hecha la coaptación de los huesos, siguió un curso regular, sin mas complicaciones que una inflamación local considerable, que se estendió hasta el codo.

Seis ó siete días después del accidente y cuando se creía que el enfermo estaba fuera de todo peligro, se presentan las primeras contracciones tetánicas en los músculos del brazo herido; aparece en seguida el *trismus*, luego se contraen los músculos del cuello, y del otro brazo, constituyendose un tétano generalizado. Después de alternativas más ó menos consoladoras y no obtante un tratamiento activo, consistente en inyecciones intravenosas de cloral, y en desbridaciones del flemón, el enfermo sucumbe por asfixia, á causa de que las contracciones espasmódicas ganaron el diafragma.

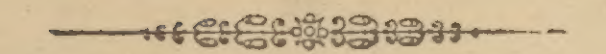
He aquí á mi juicio, lo que probablemente ha pasado en este caso. La tierra conteniendo los jérmenes potógenos penetró en la herida, que por su forma y la carencia de medios antisépticos, no pudo ser desinfectada convenientemente desde los primeros momentos; el bacilo tetánico introducido así bajo la piel, junto con los fracmentos de hueso reducidos, encontró las condiciones de *anaercobiosis*, necesarias para su desarrollo, el que tuvo lugar al abrigo del aire y con una temperatura de 37 á 38°, ni más ni menos que en un tubo de cultivo—Durante los siete días de incubación, trascurridos desde el accidente hasta el primer espasmo, se hizo la elaboración de las toxinas, las que una vez absorbidas, en potencia venenosa, obraron sobre los centros medulares, para determinar los fenómenos espasmódicos del tétano.

Señores:—Antes de terminar, os debo una palabra de agradecimiento por la benevolencia con que me habéis escuchado; y solamentente os suplico que disimuléis las imperfecciones de este trabajo, no sea más que por la importancia del asunto que me ha servido de tema.

Lima, Junio de 1891.

David Matta.

V.° B.° Villar.



CUESTIONARIO

PARA EL GRADO DE DOCTOR DEL BACHILLER DAVID MATTO.

ANATOMÍA DESCRIPTIVA	Sustancia gelatinosa de Rolando.
FISIOLOGÍA	Glicogenia hepática.
PATOLOGÍA GENERAL	Delirio: su definición patogenia y caracteres clìnicos.
TERAPÉUTICA Y MATERIA MÉDICA	Tratamiento del Tétano.
ANATOMÍA GENERAL Y PATOLÓGICA	Sangre —Tubérculo.
NOSOGRAFÍA QUIRÚRGICA	Tratamiento de los tumores blancos.
NOSOGRAFÍA MÉDICA	Periencefalitis difusa
ANATOMÍA TOPOGRÁFICA Y MEDICINA OPERATORIA	Región Occipito frontal. Trepanación.
OFTALMOLOGÍA	Astigmatismo.
FISICA MÉDICA É HIGIENE	Acción del suelo sobre los microbios patógenos.
QUIMICA MÉDICA	Glucosa úrica: su determinación clínica y su significación patológica.
ZOOLOGIA Y BOTÁNICA MÉDICAS	Principales plantas de la familia de las Algas.

PARTOS, ENFERMEDADES PUERPERALES Y DE NÍÑOS	Textura muscular del útero grávido.
MEDICINA LEGAL Y TOXICOLOGIA................	Valor del *gonococo* en las investigaciones médico legales.
FARMACIA......................................	Preparación del iodoformo.
CLINICA MÉDICA (HOMBRES)...................	Relaciones del tubérculo pulmonar con el lupus.
CLÍNICA MÉDICA (MUJERES)......................	Diversidad de la Tuberculosis.
CLINICA QUIRURGICA (HOMBRES)..................	Luxación coxo-femoral. Diagnóstico diferencial de sus variedades y de la fractura del fémur.
CLÍNICA QUIRURGICA (MUJERES)...................	Práctica de la antisépsia en las operaciones quirúrgicas.
CLÍNICA DE PARTOS................................	Conducta que debe observarse en los casos en que la cabeza queda retenida en el estrecho superior estrechado, después de la expulsión del tronco.

LIMA, JULIO 4 DE 1891.

JOSÉ CASIMIRO ULLOA
Secretario

V.° B.°
VILLAR